



## DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS (PCT)

(51) Classification internationale des brevets <sup>6</sup> :

A23G 9/02

A1

(11) Numéro de publication internationale:

WO 98/09535

(43) Date de publication internationale:

12 mars 1998 (12.03.98)

(21) Numéro de la demande internationale: PCT/EP97/03560

(22) Date de dépôt international: 5 juillet 1997 (05.07.97)

(30) Données relatives à la priorité:

96202479.0 6 septembre 1996 (06.09.96) EP

(34) Pays pour lesquels la demande régionale  
ou internationale a été déposée: CH etc.(71) Déposant (pour tous les Etats désignés sauf US): SOCIÉTÉ  
DES PRODUITS NESTLÉ S.A. [CH/CH]; P.O. Box 353,  
CH-1800 Vevey (CH).

(72) Inventeurs; et

(75) Inventeurs/Déposants (US seulement): LESENS, Corinne  
[FR/FR]; 6, rue du Docteur Roux, F-59260 Hellemmes  
(FR). DUFORT, Christian [FR/FR]; 38, rue George  
Guillemeau, F-60000 Beauvais (FR). PFEIFER, Andrea,  
M., A. [DE/CH]; Route de Fenil 16A, CH-1806 Saint  
Légier (CH). ROCHAT, Florence [CH/CH]; Quartier des  
Tilleuls 6, CH-1820 Montreux (CH).(74) Mandataire: GROS, Florent; Société des Produits Nestlé S.A.,  
P.O. Box 353, CH-1800 Vevey (CH).(81) Etats désignés: AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY,  
CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, HU,  
IL, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU,  
LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO,  
RU, SD, SE, SG, SI, SK, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US,  
UZ, VN, brevet ARIPO (GH, KE, LS, MW, SD, SZ, UG,  
ZW), brevet eurasiatique (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ,  
TM), brevet européen (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR,  
GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), brevet OAPI (BF,  
BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publiée

Avec rapport de recherche internationale.

IDS  
AM  
#4

(54) Title: OVERRUN ICE CREAM WITH COATING CONTAINING LACTIC BACTERIA

(54) Titre: CREME GLACEE FOISONNEE AVEC ENROBAGE CONTENANT DES BACTERIES LACTIQUES

(57) Abstract

The invention concerns the use of lactic bacteria in the preparation of a cream to be wholly or partly coated with ice cream. The ice cream is characterised in that it contains an overrun and frozen cream, having on the whole or part of its external surface a non-overrun coating, said coating containing  $10^3$  to  $10^9$  CFU/g of lactic bacteria. Preferably, the overrun cream contains more than  $10^6$  CFU/g of lactic bacteria, the ratio (e/g) between the number of lactic bacteria in the coating (e) and the number of lactic bacteria in the overrun cream (g) being greater than 1. The coating can contain 1 % to 70% of milk fermented by the lactic bacteria, 0.5 % to 5 % of animal or vegetable proteins, a lactic fat content of 2 % to 20 %, and preferably the *Lactobacillus acidophilus* CNCM I.1225 strain.

(57) Abrégé

Utilisation de bactéries lactiques dans la préparation d'une crème destinée à enrober tout ou partie d'une crème glacée. Crème glacée caractérisée en ce qu'elle comprend une crème foisonnée et glacée, ayant sur tout ou partie de sa surface extérieure un enrobage non-foisonné, ledit enrobage comprenant  $10^3$  à  $10^9$  CFU/g de bactéries lactiques. De préférence, la crème foisonnée comprend plus de  $10^6$  CFU/g de bactéries lactiques, le rapport (e/g) entre le nombre de bactéries lactiques dans l'enrobage (e) et le nombre de bactéries lactiques dans la crème foisonnée (g) étant supérieur à 1. L'enrobage peut comprendre 1 % à 70 % d'un lait fermenté par des bactéries lactiques, 0,5 % à 5 % de protéines animales ou végétales, un taux de matière grasse lactique de 2 % à 20 %, et de préférence la souche *Lactobacillus acidophilus* CNCM I-1225.

# **UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION**

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publiant des demandes internationales en vertu du PCT.

AL	Albanie	ES	Espagne	LS	Lesotho	SI	Slovénie
AM	Arménie	FI	Finlande	LT	Lituanie	SK	Slovaquie
AT	Autriche	FR	France	LU	Luxembourg	SN	Sénégal
AU	Australie	GA	Gabon	LV	Lettonie	SZ	Swaziland
AZ	Azerbaïdjan	GB	Royaume-Uni	MC	Monaco	TD	Tchad
BA	Bosnie-Herzégovine	GE	Géorgie	MD	République de Moldova	TG	Togo
BB	Barbade	GH	Ghana	MG	Madagascar	TJ	Tadjikistan
BE	Belgique	GN	Guinée	MK	Ex-République yougoslave de Macédoine	TM	Turkménistan
BF	Burkina Faso	GR	Grèce			TR	Turquie
BG	Bulgarie	HU	Hongrie	ML	Mali	TT	Trinité-et-Tobago
BJ	Bénin	IE	Irlande	MN	Mongolie	UA	Ukraine
BR	Brésil	IL	Israël	MR	Mauritanie	UG	Ouganda
BY	Bélarus	IS	Islande	MW	Malawi	US	Etats-Unis d'Amérique
CA	Canada	IT	Italie	MX	Mexique	UZ	Ouzbékistan
CF	République centrafricaine	JP	Japon	NE	Niger	VN	Viet Nam
CG	Congo	KE	Kenya	NL	Pays-Bas	YU	Yougoslavie
CH	Suisse	KG	Kirghizistan	NO	Norvège	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	République populaire démocratique de Corée	NZ	Nouvelle-Zélande		
CM	Cameroun			PL	Pologne		
CN	Chine	KR	République de Corée	PT	Portugal		
CU	Cuba	KZ	Kazakhstan	RO	Roumanie		
CZ	République tchèque	LC	Sainte-Lucie	RU	Fédération de Russie		
DE	Allemagne	LI	Liechtenstein	SD	Soudan		
DK	Danemark	LK	Sri Lanka	SE	Suède		
EE	Estonie	LR	Libéria	SG	Singapour		

## CREME GLACEE FOISONNEE AVEC ENROBAGE CONTENANT DES BACTERIES LACTIQUES

La présente invention a pour objet une nouvelle crème glacée contenant des bactéries lactiques.

5

Etat de la technique

On connaît les propriétés bénéfiques sur la santé humaine de certaines bactéries lactiques, appelées couramment "bactéries probiotiques". Par exemple, EP577904 (Société des Produits Nestlé) propose de préparer des laits acidifiés avec la souche *Lactobacillus acidophilus* CNCM I-1225 qui est capable d'adhérer aux cellules intestinales, d'exclure les pathogènes de la flore intestinale et d'améliorer la réponse immunitaire à une agression externe.

15 Hekmat *et al.* proposent également de préparer des crèmes glacées comprenant des bactéries probiotiques (J. Dairy Science, 75, 1415-1422, 1992). Il faut noter cependant qu'une grande partie des bactéries meurent au cours du glaçage de la crème, suite au foisonnement au cours duquel on incorpore dans la crème un gaz et on la soumet à un battage mécanique intensif, et suite à la congélation de la crème  
20 à une température négative. Il y a donc un intérêt à rechercher des moyens pour augmenter la charge finale en bactéries vivantes dans la glace, le nombre de bactéries lactiques influençant en effet directement l'activité bénéfique du produit.

Par ailleurs, les crèmes glacées sont généralement constituées d'une crème  
25 foisonnée qui est enrobée par une composition qui doit bien adhérer à la crème foisonnée, ne pas exsuder d'eau, être à la fois souple et croquante, et être stable au cours du temps. Pour remplir ces besoins, la composition d'un enrobage est ainsi le plus souvent bien distincte de celle de la crème foisonnée.

30 US4985263 (Nestec S.A.) propose par exemple d'enrober une crème glacée avec une composition à basse teneur en graisse comprenant de l'eau, un sel d'alginate, une gomme végétale, et un peu de cacao. Malheureusement, un enrobage à basse teneur en graisse est le plus souvent relativement cassant et n'adhère pas suffisamment à la crème glacée. De plus, son goût peut ne pas satisfaire le  
35 consommateur moyen habitué aux enrobages traditionnels renfermant généralement plus de 30% à 40% de matière grasse.

WO 95/21536 (Unilever) décrit par exemple un autre procédé de préparation d'un enrobage pour crème glacée, dans lequel on enrobe une crème foisonnée par une pré-couche renfermant 43% à 46% de matière grasse, et on enrobe la crème foisonnée pré-enrobée par une couverture de composition standard, la précouche permettant d'améliorer d'adhésion de la couverture à la crème glacée.

La présente invention a pour but de pallier les inconvénients de l'art antérieur, en proposant une glace dont le contenu en bactéries lactiques est enrichi significativement au moyen d'un nouvel enrobage, ledit enrobage présentant de préférence une basse teneur en matière grasse, un goût rappelant un arôme d'origine lactique ayant une note beurrée, la capacité à adhérer à la crème glacée, la capacité à ne pas exsuder d'eau, la capacité à être stable au cours du temps, et la capacité à être à la fois souple et croquant.

#### Résumé de l'invention

A cet effet, l'invention concerne une crème glacée caractérisée en ce qu'elle comprend une crème foisonnée et glacée, enrobée sur tout ou partie de sa surface extérieure par un enrobage non-foisonnée comprenant  $10^3$  à  $10^9$  cfu/g de bactéries lactiques ("cfu" provient de l'expression anglaise "Colony Forming Unit").

L'invention couvre également toute utilisation de bactéries lactiques dans la préparation d'une crème destinée à enrober tout ou partie d'une crème glacée.

#### Description détaillée de l'invention

Dans le cadre de la présente invention, on considérera que le terme "foisonnement" recouvre le procédé traditionnel dans lequel, simultanément, on incorpore un gaz dans une crème et on effectue un battage mécanique. Le plus souvent, la crème est également simultanément soumise à une température négative. Cependant, il est possible d'utiliser certains foisonneurs, tel un foisonneur à billes, "Mondomix" ou autres, avec lesquels la crème est aérée, battue, et la température de sortie de la crème est positive.

De même, on considérera que le terme "glaçage" recouvre le procédé traditionnel dans lequel, simultanément, on incorpore dans une crème un gaz, on effectue un battage mécanique, et on la soumet à une température négative.

- 5 La crème foisonnée et glacée peut avoir toutes les compositions choisies par l'homme du métier, pour autant qu'elle soit foisonnée à raison de 20% à 200% en volume.

De préférence cette crème comprend, après foisonnement et congélation, plus de  
10  $10^6$  cfu/g de bactéries lactiques, lesdites bactéries pouvant être choisies parmi les espèces *Lactococcus lactis*, notamment *L. lactis subsp. cremoris* et *L. lactis subsp. lactis biovar diacetylactis*; *Streptococcus thermophilus*; le groupes des bactéries acidophiles constitué de *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus crispatus*,  
15 *Lactobacillus amylovorous*, *Lactobacillus gallinarum*, *Lactobacillus gasseri* et *Lactobacillus johnsonii*; *Lactobacillus brevis*; *Lactobacillus fermentum*; *Lactobacillus plantarum*; *Lactobacillus helveticus*; *Lactobacillus casei* notamment *L. casei subsp. casei* et *L. casei subsp. rhamnosus*; *Lactobacillus delbruckii* notamment *L. delbruckii subsp. lactis*, et *L. delbruckii subsp. bulgaricus*; les bifidobacteries notamment *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium breve*,  
20 *Bifidobacterium longum*; et enfin *Leuconostoc mesenteroides* notamment *L. mesenteroides subsp. cremoris*, par exemple (Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, vol 2, 1986; Fujisawa *et al.*, Int. Syst. Bact, 42, 487-491, 1992).

Les bactéries lactiques probiotiques présentent à cet effet un intérêt particulier dans  
25 le cadre de la présente invention. Ces bactéries sont en fait capables d'adhérer aux cellules intestinales humaines, d'exclure des bactéries pathogènes sur des cellules intestinales humaines, et/ou d'agir sur le système immunitaire humain en lui permettant de réagir plus fortement à des agressions externes (capacité d'immunomodulation), par exemple en augmentant les capacités de phagocytose  
30 des granulocytes issus du sang humain (J. of Dairy Science, 78, 491-197, 1995: capacité d'immunomodulation de la souche *La-1* qui a été déposée sous le traité de Budapest à la Collection Nationale de Culture de Microorganisme (CNCM), 25 rue due docteur Roux, 75724 Paris, où elle s'est vue attribuer le numéro de dépôt CNCM I-1225).

A titre d'exemple, on peut utiliser la souche probiotique *Lactobacillus acidophilus* CNCM I-1225 décrite dans EP577904. Cette souche a été récemment reclassifiée parmi les *Lactobacillus johnsonii*, suite à la nouvelle taxonomie, proposée par Fujisawa *et al.*, qui fait maintenant autorité en matière de taxonomie des lactobacilles acidophiles (Int. J. Syst. Bact., 42, 487-791, 1992). D'autres bactéries probiotiques sont également disponibles, comme celles décrites dans EP199535 (Gorbach *et al.*), US5296221 (Mitsuoka *et al.*), US556785 (Institut Pasteur), ou US5591428 (Probi AB), par exemple.

- 10 De préférence, on utilise aussi des bactéries lactiques productrices de polysaccharides texturants, comme par exemple celles décrites dans EP95201669.9 et EP96201535.0. Sans vouloir être limité par l'aspect scientifique, il semble que les polysaccharides texturants sont en effet impliqués dans la capacité de l'enrobage à adhérer à la crème glacée et à être à la fois souple et
- 15 croquant.

De nombreuses méthodes sont à la disposition de l'homme du métier pour préparer une crème glacée foisonnée comprenant des bactéries lactiques vivantes. A cet effet, les procédés décrits dans DD154424, EP438201, SU1374465, FR2423163, NL9000101, US4293573, US4308287 et US5112626 peuvent être

20 incorporés par préférence à la description de la présente invention, l'homme du métier étant à même de les adapter pour mettre en œuvre la présente invention, par exemple.

- 25 Certains procédés de préparation sont cependant plus adaptés pour assurer un nombre important de bactéries lactiques vivantes dans la crème glacée foisonnée.

A cet effet, on peut incorporer un gaz neutre lors du foisonnement, comme du CO<sub>2</sub> ou de l'azote, seul ou en mélange, de manière à protéger les bactéries lactiques qui

30 sont sensibles à l'oxygène, par exemple.

On peut aussi foisonner la crème à 130-200% en volume, puis y incorporer un lait fermenté par des bactéries lactiques pour atteindre un foisonnement final de l'ordre de 80-150% en volume, par exemple.

Afin d'assurer un nombre important de bactéries lactiques vivantes dans la crème glacée foisonnée, la température en sortie du batteur est aussi considéré comme un paramètre important. Par exemple, une crème foisonnée à environ 95% et refroidie à environ -3°C en sortie de batteur contient significativement plus de bactéries *La-*  
5 *l* vivantes ( $10^7$  cfu/g) qu'une crème foisonnée à environ 95% et refroidie à environ -6°C qui en contient environ 2 à 10 fois moins ( $5$  à  $1 \times 10^6$  cfu/g). Cette différence est maintenue après durcissement de la crème glacée et après 1, 3, et 6 mois de stockage à -30°C.

10 Un autre intérêt incident à l'addition d'un lait fermenté au cours de la fabrication d'une crème glacée foisonnée est de développer une texture très onctueuse, très crémeuse, même si le taux de matière grasse est inférieur ou égal à 8%, et de développer un arôme d'origine lactique ayant une note beurrée. Cette texture  
15 crémeuse est maintenue, pendant plusieurs semaines, lors des tests de vieillissement accéléré (cycles successifs de températures étalés sur 24 h respectants des paliers à -10°C, -20°C et -30°C, puis à -30°C, -20°C et -10°C). La crème glacée foisonnée, contenant un lait fermenté, a aussi une très bonne résistance au test de fusion (mesure du poids de crème glacée fondue en fonction  
20 du temps, quand la crème glacée est maintenue dans une enceinte à +20°C). Par exemple, après plus de deux heures de test de fusion, seulement 40% à 50% de la crème glacée est sous forme liquide, le reste étant maintenue sous la forme d'une mousse. De plus, la taille des cristaux de glace, influençant directement le  
25 caractère « lisse » de la crème glacée, varie aussi très faiblement (environ 1 à 10  $\mu$ m pour le diamètre moyen des cristaux) entre le début et la fin du vieillissement accéléré. L'intérêt de cette bonne résistance au test de fusion et, du maintien de la texture crémeuse au cours du stockage et de la faible variation de la taille des cristaux de glace au cours du vieillissement accéléré est, par exemple, de pouvoir remplir un support ingestible tel une gaufrette en forme de cône, et de former une  
30 en "flamme" au cours du stockage.

On enrobe ensuite, d'une manière classique, la crème glacée foisonnée avec un enrobage comprenant des bactéries lactiques sous forme fraîches, concentrées, sèches ou encapsulées, choisies parmi les espèces citées ci-dessus, par exemple.

De préférence, au moins une partie de l'enrobage a été fermentée par une ou plusieurs espèces de bactérie lactiques. En effet, plus la quantité d'une partie fermentée est importante dans l'enrobage, au plus la capacité de l'enrobage à adhérer à la crème glacée et à être souple et croquant, est augmentée. Par ailleurs, un enrobage ayant une note aromatique lactique est particulièrement attrayante.

Après avoir glacé, puis enrobé la crème glacée foisonnée, l'enrobage comprend de  $10^3$  à  $10^9$  cfu/g de bactéries lactiques, mais de préférence au moins  $10^6$  cfu/g.

10 L'enrobage peut être réalisée classiquement par pulvérisation, trempage ou moulage, par exemple. A titre d'exemple, les techniques d'enrobage décrites dans US4985263, WO 95/21536 et FR2680635 sont incorporés par référence à la description de la présente invention.

15 L'invention présente l'avantage que l'on peut enrichir une crème glacée en bactéries lactiques vivantes. En effet, les bactéries lactiques contenues dans la crème glacée subissent non seulement le foisonnement, mais aussi le passage de la température négative. Par contre, les bactéries lactiques de l'enrobage ne subissent pas le foisonnement, mais seulement la congélation. Par conséquent, l'enrobage  
20 peut comprendre un nombre plus important de bactéries lactiques, par gramme, que la crème glacée foisonnée. Le rapport (e/g) entre le nombre de bactéries lactiques dans l'enrobage (e) et le nombre de bactéries lactiques dans la crème foisonnée (g) peut être ainsi facilement supérieur à 1, de préférence supérieur à 2, par exemple.

25 Dans une première forme de réalisation de l'invention, l'enrobage peut être enrichi avec une composition fermentée. Cette enrobage peut ainsi comprendre 1% à 70% d'un lait fermenté par les bactéries lactiques, 0,5% à 5% de protéines animales ou végétales, et un taux de matières grasses de 2% à 20%, lesdites matières grasses  
30 pouvant être d'origine lactique, ledit lait fermenté comprenant généralement  $10^4$  -  $10^9$  cfu/g de bactéries lactiques, et lesdites protéines pouvant être des protéines du jaune d'œuf ou du sérum du lait, par exemple. On peut noter qu'il n'est pas nécessaire d'ajouter des composés riches en matière grasse, végétale ou non, de façon à obtenir des taux de matière grasse proches de 40%, car la texture en  
35 bouche de l'enrobage congelé selon l'invention rappelle en effet celle d'un



enrobage congelé traditionnel ayant de 40% à 50% en matière grasse végétale, par exemple.

5 Dans une deuxième forme de réalisation de l'invention, l'enrobage peut avoir été directement fermenté en totalité. Pour cela, on prépare une composition comprenant au moins 1% à 70% d'un lait, 0,5% à 5% de protéines animales ou végétales et un taux de matière grasse de 2% à 20%, et on fermente cette composition jusqu'au moins  $10^6$  cfu/g. A titre d'indication, le lait peut être un lait qui est reconstitué à partir d'une poudre ou d'un concentré de lait entier ou  
10 écrémé, par exemple.

Dans une troisième forme de réalisation de l'invention, l'enrobage peut être simplement enrichi avec des bactéries lactiques sous forme concentrées (par centrifugation d'un milieu de culture et récupération du culot), sèches (par  
15 lyophilisation ou par pulvérisation sous un flux d'air chaud) ou encapsulées (voir ci-dessous).

L'enrobage peut avoir un pouvoir sucrant de 5 à 35 (valeur relative équivalente au saccharose) obtenu avec des sucres ou des édulcorants, comme le glucose, le fructose, le saccharose, le lactose, les sucres invertis et/ou l'aspartame, par  
20 exemple. Par ailleurs, l'enrobage peut comprendre 0,1% à 10% d'un polysaccharide, pouvant être hydrolysé ou modifié, comme les amidons, les pectines, les dextranes, les gommés telles que le xanthane, et les alginates, par exemple. Des stabilités remarquables de l'enrobage, à des cycles de congélation-décongélation, sont obtenus si l'on utilise en particulier un amidon acétylé, par  
25 exemple acétylé de l'ordre de 1% à 3%, ou un amidon hydrolysé ayant un taux en équivalant de dextrose de l'ordre de 15 à 25, par exemple.

Une crème glacée répondant parfaitement aux conditions énoncées ci-dessus peut  
30 ainsi comprendre une partie crème glacée foisonnée comprenant plus de  $10^6$  cfu/g de bactéries lactiques, et une partie enrobage comprenant plus de  $5 \times 10^6$  cfu/g de bactéries lactiques, 0,1% à 10% d'un amidon acétylé, 1% à 60% d'un lait, 0,5% à 5% de protéines animales ou végétales, un taux de saccharose de 15% à 30% et un taux de matière grasse lactique de 2% à 20%, par exemple. Les meilleures résultats  
35 sont de plus obtenus avec la souche *Lactobacillus acidophilus* CNCM I-1225 et/ou

les souches *Streptococcus thermophilus* CNCM I-1421 et CNCM I-1424 (déposées à l'Institut Pasteur, 25 rue du Docteur Roux, Paris, le 18.05.1994).

5 Par ailleurs, l'enrobage peut comprendre en outre des fibres qui ne seront pas ou peu digérés dans l'estomac et le tractus intestinal, mais qui sont néanmoins spécifiquement fermentescibles par les bactéries lactiques mentionnées ci-dessus, permettant ainsi de restaurer ou de promouvoir une flore adaptée en bactéries lactiques bénéfiques pour la santé humaine.

10 Ces fibres peuvent être de nature protéique ou saccharidique choisies, par exemple, parmi les pectines végétales, les chito-, fructo-, gentio-, galacto-, isomalto-, manno- ou xylo-oligosaccharides ou les oligosaccharide de soja, par exemple (Playne et al., Bulletin of the IDF 313, Group B42, Annual Session of September 95, Vienna).

15 Les pectines préférées sont des polymères d'acide  $\alpha$ -1,4-D-galacturonique ayant un poids moléculaire de l'ordre de 10 à 400 kDa, que l'on peut purifier des carottes ou des tomates, par exemple (JP60164432). Les galacto-oligosaccharides préférés comprennent une partie saccharidique constituée 2 à 5 unités répétitives  
20 de la structure  $[-\alpha\text{-D-Glu-(1}\rightarrow\text{4)-}\beta\text{-D-Gal-(1}\rightarrow\text{6)-}]$  (Yakult Honsa Co., Japon). Les fructo-oligosaccharides préférés sont des inulin-oligofructose extraits de la chicorée pouvant comprendre, par exemple, 1-9 unités répétitives de la structure  $[-\beta\text{-D-Fru-(1}\rightarrow\text{2)-}\beta\text{-D-Fru-(1}\rightarrow\text{2)-}]$  (WO94/12541; Raffinerie Tirlemontoise S.A., Belgique), ou des oligosaccharides synthétisés à partir d'unités saccharose pouvant  
25 comprendre, par exemple, une partie saccharidique constituée de 2 à 9 unités répétitives de la structure  $[-\alpha\text{-D-Glu-(1}\rightarrow\text{2)-}\beta\text{-D-Fru-(1}\rightarrow\text{2)-}]$  (Meiji Seika Kasiha Co., Japon). Les malto-oligosaccharides préférés comprennent une partie saccharidique constituée de 2 à 7 unités répétitives de la structure  $[-\alpha\text{-D-Gal-(1}\rightarrow\text{4)-}]$  (Nihon Shokuhin Kako Co., Japon). Les isomaltose préférés comprennent  
30 une partie saccharidique constituée de 2 à 6 unités répétitives de la structure  $[-\alpha\text{-D-Glu-(1}\rightarrow\text{6)-}]$  (Showa Sangyo Co., Japon). Les gentio-oligosaccharides préférés comprennent une partie saccharidique constituée de 2 à 5 unités répétitives de la structure  $[-\beta\text{-D-Glu-(1}\rightarrow\text{6)-}]$  (Nihon Shokuhin Kako Co., Japon). Enfin, les xylo-oligosaccharides préférés comprennent une partie saccharidique constituée de 2 à  
35 9 unités répétitives de la structure  $[-\beta\text{-xyl-(1}\rightarrow\text{4)-}]$  (Suntory Co., Japon), par exemple.

La quantité de fibres dépend de la capacité de celles-ci à promouvoir le développement des bactéries lactiques. En règle générale, l'enrobage peut contenir de 0,1 à 20% de telles fibres (en poids sur la matière sèche), notamment au moins  
5  $10^3$  cfu de bactéries lactiques par g de fibres, de préférence  $10^4$  à  $10^7$  cfu/g de fibres. Par ailleurs, la crème glacée peut être conçue de sorte à pouvoir fournir potentiellement jusqu'à un maximum 10 g de fibres par dessert. Des quantités supérieures en fibres induisent en effet une sensation de lourdeur désagréable dans l'estomac (Bouhnik *et al.*, Cah. Nutr. Diét., 6, 418-422, 1991; Ito et al., Microb.  
10 Ecol. Health Dis., 3, 285-292, 1990).

De préférence, les bactéries lactiques ne sont pas en contact substantiel avec les fibres, ce qui évite un début de fermentation intempestif des fibres lors de la préparation du dessert (quand la crème glacée est fermentée), ou lors de sa  
15 conservation due en particulier aux problèmes de variation de la température de stockage durant les périodes estivales.

A cet effet, on a trouvé que la micro-encapsulation des bactéries présente des avantages techniques et thérapeutiques indéniables. Premièrement, la micro-encapsulation augmente significativement la survie des bactéries lactiques, et donc  
20 le nombre de bactéries lactiques vivantes qui arrivent dans l'intestin. Deuxièmement, ces bactéries ne sont pas libérées dans l'enrobage lorsque celui-ci est soumis à une température telle que l'on observe normalement un début de fermentation. Encore plus important, les bactéries lactiques sont graduellement relâchées dans l'intestin, ce qui permet une action prolongée des bactéries  
25 lactiques sur la santé humaine.

De préférence, pour encapsuler les bactéries lactiques, on sèche les bactéries lactiques par lyophilisation ou par pulvérisation (EP96201922.0), et on les  
30 incorpore dans un gel formé, par exemple, par un acide gras solidifié, un alginat de sodium, de l'hydroxypropylmethylcellulose polymérisé ou du polyvinylpyrrolidone polymérisé. A cet effet, l'enseignement dispensé dans FR2443247 (Société des Produits Nestlé) est incorporé par référence à la description de la présente invention.

De même, il a été observé que la concentration en fibres dans l'intestin retarde le transit intestinal des fibres, ce qui influence positivement le développement des bactéries lactiques dans l'intestin. En d'autres termes, moins les fibres sont concentrées dans la crème glacée selon l'invention, par exemple en les mélangeant  
5 uniquement avec la crème foisonnée, moins bon est le développement bactérien dans l'intestin. Le fait de concentrer les fibres sous la forme d'un enrobage permet ainsi de potentialiser l'effet bénéfique des bactéries lactiques sur la santé humaine.

Enfin, un autre problème incident résolu par la présente invention réside dans le  
10 fait que certaines fibres sont très facilement dégradées par un pH acide, notamment par le pH d'une crème fermentée par des bactéries lactiques. Dans la mesure où l'enrobage a été simplement enrichi par un lait fermenté (enrobage non fermenté en totalité), ou par des bactéries lactiques concentrées, sèches ou encapsulées, le pH de l'enrobage présente ainsi l'avantage de ne pas être supérieur  
15 à 5.

Pour obtenir une crème glacée dont les caractéristiques techniques et gustatives répondent parfaitement aux besoins de la présente invention, il n'est pas nécessaire que les bactéries lactiques soient encore toutes vivantes, bien que leur présence  
20 confèrent en fait un avantage réel pour la santé du consommateur. En effet, il est aussi possible d'utiliser une des compositions d'enrobage décrites ci-dessus, à la différence près qu'on l'inactive préalablement de manière à réduire le nombre de bactéries à moins de  $10^3$  cfu/g. Pour cela, on peut pasteuriser à la chaleur ou sous une haute pression la composition destinée à enrober la crème glacée, sans que le  
25 goût de l'enrobage final ou de ses propriétés d'adhérence et de souplesse soient altérés, par exemple.

La présente invention est décrite plus en détail dans les exemples présentés ci-après. Les pourcentages sont donnés en poids sauf indication contraire. Il va de  
30 soi, toutefois, que ces exemples sont donnés à titre d'illustration de l'objet de l'invention dont ils ne constituent en aucune manière une limitation. Les souches utilisées, uniquement à titre d'exemple, *Lactobacillus johnsonii* La-1, *Bifidobacterium longum* B116, *Streptococcus thermophilus* Sfi9 et Sfi21, ont été déposées sous le traité de Budapest à la Collection Nationale de Culture de  
35 Microorganisme (CNCM), 25 rue du docteur Roux, 75724 Paris, France, respectivement le 30 juin 1992 (La-1, B116) et le 18 mai 1994 (Sfi9, Sfi21), et se

sont vues attribuer respectivement les numéros de dépôt CNCM I-1225, CNCM I-1228, CNCM I-1421 et CNCM I-1424.

Exemple 1 Crème glacée foisonnée comprenant une addition de lait fermenté

Dans cet exemple, la source de lait fermenté est un lait acidifié, vendu en France sous la marque LC<sup>1</sup>® "nature" (Société des Produits Nestlé, France), comprenant environ 10<sup>7</sup> cfu/ml de la souche probiotique *Lactobacillus acidophilus* CNCM I-1225 (ci-après dénommée *La-1*, et environ 10<sup>8</sup> cfu/ml de chaque souche texturante *Streptococcus thermophilus* *Sfi9* et *Sfi21*. Tout autre lait fermenté, pasteurisé ou non, peut être aussi additionné à la base crème glacée, à raison de +1% à 50%, ou à la base d'enrobage, à raison de 1 à 70%, par exemple.

On prépare une base concentrée pour crème glacée, en mélangeant à 60-65°C pendant 20 min, environ 11% de graisses lactiques, 8,8% de solides de lait (non gras), 25% saccharose, 5% de sirop de glucose et 0,6% d'Emulstab® SE30. On homogénéise la base à 72-75°C et à 210 bars (2 étages à 210/50 bars), on la pasteurise à 85°C pendant 22 sec (pasteurisateur APV, France, Evreux, 400 l/h), on la refroidit à 4°C, et on y ajoute 40% de lait commercial acidifié LC<sup>1</sup>®. La composition de cette base concentrée est présentée dans le tableau 1 ci-dessous.

Tableau 1

Ingrédients	Composi- tion (kg)	Graisses (%)	Matières sèches non grasses (%)	Saccharose (%)	Extrait sec (%)
Crème (35%)	31,43	11,00	1,57		12,57
Poudre de lait écrémé	7,60		7,30		7,30
Saccharose	36,77			25,00	25,00
Sirop de glucose	5,27				5,00
Emulstab SE30	0,67				0,63
Eau	18,26				
Total: base crème	100,00	11,00	8,87	25,00	50,50
Base crème (60%)	60,00	6,60	5,32	15,00	30,30
LC <sup>1</sup> ® (40%)	40,00	1,40	4,68	-	6,08
Total: crème + LC <sup>1</sup> ®	100,00	8,00	10,00	15,00	36,38

Après maturation de la base pendant 12h à 4°C, on la glace à un degré de foisonnement de 95% en volume (glaceur Crepaco, France, Evreux; 160 l. de produit/h), puis on enrobe tout ou partie de la crème foisonnée selon les méthodes

décrites ci-dessous, et avec les différentes compositions d'enrobage décrites dans les exemples 3 à 5 ci-après.

5 Pour préparer un bâtonnet moulé, on utilise la technique classique de remplissage "shell and core". A cet effet, l'enrobage selon l'exemple 3 est dosé dans un moule, ledit moule étant dans un bain à eau glycollée à -35°C. Après 30 s, l'enrobage non congelé est aspiré. Seul l'enrobage congelé reste dans le moule, pour former une coque. La crème glacée foisonnée à 95%, sortie du glaceur à -3°C est alors dosée dans cette coque. Après 30 min. D'attente, le bâtonnet est démoulé. Il est ensuite  
10 pulvérisé avec de l'eau de source, emballé, placé pendant 3 heures en chambre de durcissement à -40°C, puis stocké en chambre à -30°C.

Pour préparer un bâtonnet extrudé, on extrude la crème glacée foisonnée à 95%, sortie à -5°C/-6°C du glaceur, avec un extrudeur ayant une tête d'extrusion ayant  
15 une forme souhaitée. Le bâtonnet extrudé est ensuite congelé en tunnel de congélation à -45°C. Le bâtonnet est alors enrobé par trempage dans la composition décrite selon l'exemple 4. Il est ensuite pulvérisé avec de l'eau de source, emballé, placé pendant 3 heures en chambre de durcissement à environ -40°C, puis stocké en chambre à -30°C.

20 Pour préparer un pot de crème glacée, on extrude la crème glacée foisonnée à 95%, sortie à -5°C/-6°C du glaceur, avec un extrudeur ayant une tête d'extrusion à la forme souhaitée, dans des pots 12 cl. Par dosage, le décor, dont la composition est décrite dans l'exemple 5 ci-après, est déposé à la surface de la crème glacée  
25 foisonnée. Le pot est placé, pendant 3 heures, en chambre de durcissement à environ -40°C, puis il est stocké en chambre à -30°C.

Après durcissement, on détermine le nombre de bactéries vivantes dans la crème foisonnée et dans l'enrobage, par étalement de dilutions d'échantillons sur un  
30 milieu MRS-agar (DE Man *et al.*, 1960) supplémenté d'un antibiotique et par numération du nombre de colonies de *La-1* s'y développant.

Les résultats montrent que la population de *La-1*, après durcissement, dans la crème glacée foisonnée en pots, est de l'ordre de  $2 \times 10^6$  cfu par gramme. La  
35 population de bactéries lactiques fluctue relativement peu lors d'un stockage de la crème glacée pendant plusieurs mois à des températures de congélation. Par

exemple, après 6 mois de conservation à  $-30^{\circ}\text{C}$ , le nombre de bactéries dans la partie crème glacée foisonnée en pots est d'environ  $1 \times 10^6$  cfu/g.

5 Les résultats montrent que la population de *La-1*, après durcissement, dans la crème glacée foisonnée extrudée ou moulée sous la forme de bâtonnets, est de l'ordre de  $1,3 \times 10^6$  cfu par gramme. Quand le bâtonnet de crème glacée foisonnée est enrobé (moulage ou trempage), la population bactérienne sur le produit total est alors de l'ordre de  $8,6 \times 10^6$  cfu par gramme. L'enrobage permet donc, dans ce

10 On soumet également les bâtonnets glacés et les pots, à des cycles successifs de températures étalés sur 24h, respectants des paliers à  $-10^{\circ}\text{C}$ ,  $-20^{\circ}\text{C}$  et  $-30^{\circ}\text{C}$ , puis à  $-30^{\circ}\text{C}$ ,  $-20^{\circ}\text{C}$ , et  $-10^{\circ}\text{C}$ . La crème glacée est alors soumise à un vieillissement accéléré. On analyse ensuite la survie des bactéries au cours du temps. Dans les  
15 crèmes glacées en pots, on observe uniquement un faible déclin, de l'ordre de 18%, du nombre de bactéries lactiques après 3 mois de vieillissement accéléré. Des résultats similaires sont observés pour les bâtonnets glacés.

20 La capacité de l'enrobage à adhérer à la crème glacée, et à être souple et croquant est évaluée par un panel de dégustateurs. Lors des dégustations, le bâtonnet ayant subi les cycles successifs de températures, pendant 1, 2, 3 ou 4 mois, est comparé à un bâtonnet témoin fraîchement stocké à  $-30^{\circ}\text{C}$ . Les résultats montrent que pour les bâtonnets enrobés avec les couvertures décrites dans les exemples 3 et 4, aucune altération, concernant l'adhérence, la souplesse et le croquant n'est  
25 observée par le panel de dégustateurs après 1 mois de vieillissement accéléré. Pour comparaison, un bâtonnet enrobé avec une couverture chocolat contenant 40% à 60% de matière grasse végétale ne subit aucune altération, au cours d'un tel vieillissement accéléré.

### 30 Exemple 2 Crème glacée foisonnée et fermentée

On prépare une crème comprenant 10,8% de graisses lactiques, 13,5% de solides de lait (non gras), 0,3% d'Emulstab® SE30, et 0,3% d'Emulstab® mousse (Grindsted, DK), on la pasteurise à  $105^{\circ}\text{C}$  pendant 20 s, on l'homogénéise à  $75^{\circ}\text{C}$   
35 et 300 bars, on la refroidit à  $38^{\circ}\text{C}$ , et on l'inocule avec des précultures en milieu MRS, prises en phase exponentielle de croissance, à raison de 5% en poids d'une

préculture de *La-1*, et 0,5% en poids d'une préculture de la souche *Streptococcus thermophilus* Sfi21. On fermente ensuite la crème pendant 10h à 38°C jusqu'à un pH d'environ 4,5. A la fin de la fermentation, on y ajoute du saccharose et un sirop de glucose. La composition de la crème est présentée dans le tableau 2 ci-après.

5

Le mélange est ensuite brassé, refroidi à 4°C, conservé à 4°C, glacée à un degré de foisonnement de 95% en volume (glaceur Crepaco, France; 160 l. de produit/h), puis enrobé, tout ou partie, selon les méthodes décrites à l'exemple 1, et avec les différentes compositions d'enrobage décrites dans les exemples 3 à 5 ci-après.

10

Après durcissement, le nombre de bactéries vivantes dans les crèmes glacées foisonnées est de l'ordre de  $7 \times 10^6$  cfu/g, et après 3 mois de conservation à -30°C de l'ordre de  $6 \times 10^6$  cfu/g.

15

Dans les bâtonnets glacés et enrobés, on observe également un enrichissement de la population bactérienne sur le produit total. Quand le bâtonnet de crème glacée foisonnée est enrobé par moulage ou trempage, la population bactérienne sur le produit total est alors de l'ordre de  $10^7$  cfu par gramme, après 6 mois de stockage. L'enrobage permet donc, dans ce cas aussi, d'enrichir la crème glacée foisonnée en bactéries lactiques.

20

Les bâtonnets glacés et les pots soumis à un vieillissement accéléré comme décrit à l'exemple 1, survivent particulièrement bien, puisque moins de 50% des bactéries lactiques meurent.

25

La capacité de l'enrobage à adhérer à la crème glacée, et à être souple et croquant est également évalué par un panel de dégustateurs, selon la méthode décrite à l'exemple 1. Les résultats montrent que pour les bâtonnets enrobés avec les couvertures décrites dans les exemples 3 et 4 après 1 mois de vieillissement accéléré, aucune altération, concernant l'adhérence, la souplesse et le croquant n'est observée par le panel de dégustateurs.

30



Tableau 2

Ingrédients	Composi- tion (kg)	Graisses (%)	Matières sèches non grasses (%)	Saccharose (%)	Extrait sec (%)
Crème (35%)	30,83	10,79	1,54		12,33
Poudre de lait écrémé	12,45		11,95		11,95
Emulstab® SE30	0,41				0,37
Emulstab® mousse	0,41				0,36
Eau	55,91				
Total: base crème	100,00	10,79	13,49	-	25,01
Base crème	74,14	8,00	10,00	-	18,54
Saccharose	22,06			15,00	15,00
Sirop de glucose	3,80				3,00
Crème glacée fermentée	100,00	8,00	10,00	15,00	36,54

Exemple 3 Crème de base sans œuf pour enrobage de type "shell and core"

5

Cet exemple reprend au tableau 3 la composition de la crème de base non foisonnée sans œuf pour enrobage de type "shell and core", utilisée pour enrober les crèmes glacées foisonnées moulées décrites aux exemples 1 et 2. Dans cet exemple, le lait fermenté LC<sup>1</sup>® a été additionné à raison de 40% dans la base.

10

Tout autre lait fermenté pourrait être utilisé à raison de 1 à 70%.

Tableau 3

Ingrédient	Poids (g)	Fournisseur
Lait concentré sucré 9% MG	36,7	National Starch, US New Zealand Milk Product, NZ  Ciprial, France
Sucre liquide 68% MS	4,78	
Sirop de sucre inversé 2/3	10,28	
Sirop de glucose atomisé 36/40	9,56	
Amidon de maïs modifié H Colflo 67	1,1	
LGC450	1,5	
Acide tartrique	0,145	
Sauce citron 98/21	0,8	
Crème laitière pasteurisée à 35% MG	33,6	
Eau	1,535	
Total: BASE	100	
BASE	60	
Lait fermenté (LC <sup>1</sup> ®)	40	
TOTAL	100	

Exemple 4 Crème de base sans œuf pour enrobage de type "trempage"

5 Cet exemple reprend au tableau 4 la composition de la crème de base non foisonnée sans œuf pour enrobage de type "trempage", utilisée pour enrober les crèmes glacées foisonnées extrudées décrites aux exemples 1 et 2. Dans cet exemple le lait fermenté LC<sup>1</sup>® a été additionné à raison de 40% dans la base. Tout autre lait fermenté pourrait être aussi utilisé à raison de 1 à 70%.

Tableau 4

10

Ingrédient	Poids (g)	Fournisseur
Lait concentré sucré 9% MG	22,91	National Starch, US New Zealand Milk Product, NZ  Ciprial, France
Sucre liquide 68% MS	2,98	
Sirop de sucre inverti 2/3	6,42	
Sirop de glucose atomisé 36/40	5,97	
Amidon de maïs modifié H Colflo 67	0,9	
LGC450	1,5	
Acide tartrique	0,09	
Sauce citron 98/21	0,5	
Crème laitière pasteurisée à 35% MG	21	
Eau	37,71	
Total: BASE	100	
BASE	60	
Lait fermenté (LC <sup>1</sup> ®)	40	
TOTAL	100	

Exemple 5 Crème de base pour décor sur une crème glacée en pot

15 Cet exemple reprend au Tableau 5, la composition de la crème de base non foisonnée avec œuf pour décor, utilisé pour décorer les crèmes glacées foisonnées extrudées en pots décrites aux exemples 1 et 2. Dans cet exemple le lait fermenté LC<sup>1</sup>® a été additionné à raison de 40% dans la base. Tout autre lait fermenté pourrait être utilisé à raison de 1 à 70%.

Tableau 5

Ingrédient	Poids (g)	Fournisseur
Lait concentré sucré 9% MG	22	National Starch, US Ferme Du Pré Ciprial, France
Sucre liquide 68% MS	3	
Sirop de sucre inversé 2/3	4,45	
Sirop de glucose atomisé 36/40	4	
Amidon de maïs modifié H Colflo 67	4	
Jaune œuf liquide	26,7	
Acide tartrique	0,09	
Sauce citron 98/21	0,5	
Eau	35,26	
Total: BASE	100	
BASE	60	
Lait fermenté (LC <sup>1</sup> ®)	40	
TOTAL	100	

Exemple 6 Encapsulation de bactéries lactiques

5

Dans une cuve de 100 l, on prépare 80 l de milieu de culture présentant la composition suivante: 0,25% d'extrait de levure, 1,00% de trypticase, 0,50% de phytone, 1,5% de glucose, 0,05% de L-cystéine HC1, 0,25% de K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0,025% de ZnSO<sub>4</sub>, des traces de FeCl<sub>3</sub>, et le reste d'eau.

10

On inocule avec 1 l d'une culture de 20 h de *Bifidobacterium longum* B116. On incube le milieu pendant 12 h à 30°C. On centrifuge le bouillon de culture et l'on récolte 240 g de cellules. On les dilue dans 250 ml de lait écrémé additionné de 7% de lactose. On congèle le mélange à l'azote liquide. On lyophilise à 40°C pendant une nuit. On prépare une dispersion à 5% de la poudre obtenue dans de la graisse végétale hydrogénée présentant un point de fusion de 42° et liquéfiée à 45°C. On injecte la dispersion à 45°C sous une pression de 4 bars, en même temps que de l'azote liquide, à raison de 1 partie de dispersion pour 5 parties d'azote, au sommet d'un cylindre vertical de 1,5m de diamètre et 10 m de hauteur. Au fond du cylindre est placé un récipient contenant de l'azote liquide dans lequel on recueille des microbilles renfermant des bifidobactéries dont le diamètre oscille entre 0,1 et 0,5 m. On met ensuite les microbilles en lit fluidifié et l'on pulvérise sur le lit une solution alcoolique à 8% de zéine, en quantité telle que la couche de zéine formée autour des microbilles représente 5% de leur poids.

25

Les microbilles sont ensuite incorporées à la composition d'enrobage "shell and core" décrite au tableau 5 ci-dessus, de sorte à obtenir environ  $10^7$  cfu par gramme. Puis la crème glacée décrite à l'exemple 2 est enrobée avec cette composition.

5 Exemple 7 Enrobage à base de fibres et de bactéries lactiques

On prépare la base concentrée décrite à l'exemple 1, et on y ajoute 40% d'un lait fermenté par les souches *Lactobacillus johnsonii* La-1 ( $10^7$  cfu/ml) et *Bifidobacterium longum* BI16 ( $10^7$  cfu/ml). Après maturation de la crème pendant 12h à 4°C, on la glace à un degré de foisonnement de 95% en volume (glaceur Crepaco, France, Evreux; 160 l. de produit/h), puis on enrobe tout ou partie de la crème foisonnée avec les deux différentes compositions d'enrobage décrites ci-après.

15 Tableau 6 Pour enrobage shell and core

Ingrédient	Poids (g)	Fournisseur
Lait concentré sucré 9% MG	30,7	Beghin Meiji, FR
Sucre liquide 68% MS	4,78	
Fructo-oligosaccharide Actilight® 950P	10	
Sirop de sucre inverti 2/3	9,28	
Sirop de glucose atomisé 36/40	6,56	
Amidon de maïs modifié H Colflo® 67	1,1	National Starch, US
LGC450	1,5	
Acide tartrique	0,145	New Zealand Milk Product, NZ
Sauce citron 98/21	0,8	
Crème laitière pasteurisée à 35% MG	33,6	Ciprial, FR
Eau	1,535	
Total: BASE	100	
BASE	60	
Lait acidifié	40	
TOTAL	100	

Tableau 7 Pour enrobage par trempage

Ingrédient	Poids (g)	Fournisseur
Lait concentré sucré 9% MG	20,91	Snow Brand Milk Product, JP
Sucre liquide 68% MS	2,98	
Galacto-oligosaccharide P7L	6,42	
Sirop de sucre inversé 2/3	4	
Sirop de glucose atomisé 36/40	3,97	National Starch, US
Amidon de maïs modifié H Colflo® 67	0,9	
LGC450	1,5	New Zealand Milk Product, NZ
Acide tartrique	0,09	
Sauce citron 98/21	0,5	Ciprial, FR
Crème lactière pasteurisée à 35% MG	21	
Eau	37,71	
Total: BASE	100	
BASE	60	
Lait acidifié	40	
TOTAL	100	

5 Après durcissement, on détermine le nombre de bactéries vivantes dans les crèmes foisonnées et dans les enrobages. Les résultats sont comparables à ceux présentés à l'exemple 1.

10 Enfin, la capacité des bâtonnets enrobés à promouvoir le développement des bactéries lactiques *La-1* et *B116* dans l'intestin est également mis en évidence, en déterminant le nombre de *La-1* et *B116* résidant dans les fèces après plusieurs jours suivant une consommation régulière d'environ 200 ml, soit environ 100g, de crèmes glacées par jour, et cela au regard d'une diète dépourvue en fibres.

TRAITE DE BUDAPEST SUR LA RECONNAISSANCE  
INTERNATIONALE DU DEPOT DES MICRO-ORGANISMES  
AUX FINS DE LA PROCEDURE EN MATIERE DE BREVETS

## FORMULE INTERNATIONALE

DESTINATAIRE :  
Messieurs ARCHAMBAULT et WAVRE  
NESTEC S.A.  
Service des Brevets  
Avenue Nestlé 55 - CH-1800 VEVEY - SUISSE

RECEPISSE EN CAS DE DEPOT INITIAL,  
délivré en vertu de la règle 7.1 par  
l'AUTORITE DE DEPOT INTERNATIONALE  
identifiée au bas de cette page

NOM ET ADRESSE  
DU DEPOSANT

NESTEC S.A. - Service des Brevets - Avenue Nestlé 55 -  
CH-1800 VEVEY - SUISSE

I. IDENTIFICATION DU MICRO-ORGANISME	
Référence d'identification donnée par le DEPOSANT :  La 1	Numéro d'ordre attribué par l'AUTORITE DE DEPOT INTERNATIONALE :  I - 1225
II. DESCRIPTION SCIENTIFIQUE ET/OU DESIGNATION TAXONOMIQUE PROPOSEE	
Le micro-organisme identifié sous chiffre 1 était accompagné :	
<input checked="" type="checkbox"/> d'une description scientifique	
<input checked="" type="checkbox"/> d'une désignation taxonomique proposée	
(Cocher ce qui convient)	
III. RECEPTION ET ACCEPTATION	
La présente autorité de dépôt internationale accepte le micro-organisme identifié sous chiffre 1, qu'elle a reçu le 30.06.1992 (date du dépôt initial) <sup>1</sup>	
IV. RECEPTION D'UNE REQUETE EN CONVERSION	
La présente autorité de dépôt internationale a reçu le micro-organisme identifié sous chiffre 1 le (date du dépôt initial) et a reçu une requête en conversion du dépôt initial en dépôt conforme au Traité de Budapest le (date de réception de la requête en conversion)	
V. AUTORITE DE DEPOT INTERNATIONALE	
Nom : Collection Nationale de Cultures de Microorganismes Institut Pasteur 25, Rue du Docteur Roux Adresse : 75724 PARIS CEDEX 15	Signature(s) de la (des) personne(s) compétente(s) pour représenter l'autorité de dépôt internationale ou de l'(des) employé(s) autorisé(s)  Date : Paris le 02 Juillet 1992 Mme Y. CERISIER

<sup>1</sup> En cas d'application de la règle 6.4.d), cette date est la date à laquelle le statut  
d'autorité de dépôt internationale a été acquis.

- 21 -

TRAITE DE BUDAPEST SUR LA RECONNAISSANCE  
INTERNATIONALE DU DEPOT DES MICRO-ORGANISMES  
AUX FINS DE LA PROCEDURE EN MATIERE DE BREVETS

## FORMULE INTERNATIONALE

DESTINATAIRE :  
Messieurs ARCHAMBAULT et WAVRE  
NESTEC S.A.  
Service des Brevets  
Avenue Nestlé 55 - CH-1800 VEVEY - SUISSE

RECEPISSE EN CAS DE DEPOT INITIAL,  
délivré en vertu de la règle 7.1 par  
l'AUTORITE DE DEPOT INTERNATIONALE  
identifiée au bas de cette page

NOM ET ADRESSE  
DU DEPOSANT

NESTEC S.A. - Service des Brevets - Avenue Nestlé 55 -  
CH-1800 VEVEY - SUISSE

I. IDENTIFICATION DU MICRO-ORGANISME	
Référence d'identification donnée par le DEPOSANT :  B1 16	Numéro d'ordre attribué par l'AUTORITE DE DEPOT INTERNATIONALE :  I - 1228
II. DESCRIPTION SCIENTIFIQUE ET/OU DESIGNATION TAXONOMIQUE PROPOSEE	
Le micro-organisme identifié sous chiffre I était accompagné :	
<input checked="" type="checkbox"/> d'une description scientifique	
<input checked="" type="checkbox"/> d'une désignation taxonomique proposée	
(Cocher ce qui convient)	
III. RECEPTION ET ACCEPTATION	
La présente autorité de dépôt internationale accepte le micro-organisme identifié sous chiffre I, qu'elle a reçu le 30.06.1992 (date du dépôt initial) <sup>1</sup>	
IV. RECEPTION D'UNE REQUETE EN CONVERSION	
La présente autorité de dépôt internationale a reçu le micro-organisme identifié sous chiffre I le (date du dépôt initial) et a reçu une requête en conversion du dépôt initial en dépôt conforme au Traité de Budapest le (date de réception de la requête en conversion)	
V. AUTORITE DE DEPOT INTERNATIONALE	
Nom : Collection Nationale de Cultures de Microorganismes Institut Pasteur 25, Rue du Docteur Roux Adresse : 75724 PARIS CEDEX 15	Signature(s) de la (des) personne(s) compétente(s) pour représenter l'autorité de dépôt internationale ou de l'(des) employé(s) autorisé(s) : <i>[Signature]</i> Date : Paris le 02 Juillet 1992 Mme Y. CERISIER

<sup>1</sup> En cas d'application de la règle 6.4.d), cette date est la date à laquelle le statut C.N.C.M.  
d'autorité de dépôt internationale a été acquis.

- 22 -

TRAITE DE BUDAPEST SUR LA RECONNAISSANCE  
INTERNATIONALE DU DEPOT DES MICRO-ORGANISMES  
AUX FINS DE LA PROCEDURE EN MATIERE DE BREVETS

## FORMULE INTERNATIONALE

DESTINATAIRE :

NESTEC S.A.  
Service des Brevets  
Avenue Nestlé 55  
CH-1800 VEVEY  
SUISSE

RECEPISSE EN CAS DE DEPOT INITIAL,  
délivré en vertu de la règle 7.1 par  
l'AUTORITE DE DEPOT INTERNATIONALE  
identifiée au bas de cette page

NOM ET ADRESSE  
DU DEPOSANT

I. IDENTIFICATION DU MICRO-ORGANISME	
Référence d'identification donnée par le DEPOSANT : <b>SFI 9</b>	Numéro d'ordre attribué par l'AUTORITE DE DEPOT INTERNATIONALE : <b>I - 1421</b>
II. DESCRIPTION SCIENTIFIQUE ET/OU DESIGNATION TAXONOMIQUE PROPOSEE	
Le micro-organisme identifié sous chiffre I était accompagné :	
<input checked="" type="checkbox"/> d'une description scientifique <input checked="" type="checkbox"/> d'une désignation taxonomique proposée (Cocher ce qui convient)	
III. RECEPTION ET ACCEPTATION	
La présente autorité de dépôt internationale accepte le micro-organisme identifié sous chiffre I, qu'elle a reçu le <b>18 mai 1994</b> (date du dépôt initial) 1	
IV. RECEPTION D'UNE REQUETE EN CONVERSION	
La présente autorité de dépôt internationale a reçu le micro-organisme identifié sous chiffre I le (date du dépôt initial) et a reçu une requête en conversion du dépôt initial en dépôt conforme au Traité de Budapest le (date de réception de la requête en conversion)	
V. AUTORITE DE DEPOT INTERNATIONALE	
Nom : <b>CNCM</b> Collection Nationale de Cultures de Microorganismes  Adresse : <b>INSTITUT PASTEUR</b> 28, Rue du Docteur Roux F-75724 PARIS CEDEX 15	Signature(s) de la (des) personne(s) compétente(s) pour représenter l'autorité de dépôt internationale ou de l'(des) employé(s) autorisé(s) : <b>Mme Y. CERISIER</b> Directeur Administratif de la CNCM  <i>Y. Cerisier</i> Date : <b>Paris, le 10 juin 1994</b>

1 En cas d'application de la règle 6.4.d), cette date est la date à laquelle le statut d'autorité de dépôt internationale a été acquis.



TRAITE DE BUDAPEST SUR LA RECONNAISSANCE  
INTERNATIONALE DU DEPOT DES MICRO-ORGANISMES  
AUX FINS DE LA PROCEDURE EN MATIERE DE BREVETS


## FORMULE INTERNATIONALE

DESTINATAIRE :

NESTEC S.A.  
Service des Brevets  
Avenue Nestlé 55  
CH-1800 VEVEY  
SUISSE

RECEPISSE EN CAS DE DEPOT INITIAL.  
délivré en vertu de la règle 7.1 par  
l'AUTORITE DE DEPOT INTERNATIONALE  
identifiée au bas de cette page

NOM ET ADRESSE  
DU DEPOSANT

I. IDENTIFICATION DU MICRO-ORGANISME	
Référence d'identification donnée par le DEPOSANT :	Numéro d'ordre attribué par l'AUTORITE DE DEPOT INTERNATIONALE :
SFI 21	I - 1424
II. DESCRIPTION SCIENTIFIQUE ET/OU DESIGNATION TAXONOMIQUE PROPOSEE	
Le micro-organisme identifié sous chiffre I était accompagné :	
<input checked="" type="checkbox"/> d'une description scientifique <input type="checkbox"/> d'une désignation taxonomique proposée (Cocher ce qui convient)	
III. RECEPTION ET ACCEPTATION	
La présente autorité de dépôt internationale accepte le micro-organisme identifié sous chiffre I, qu'elle a reçu le 18 mai 1994 (date du dépôt initial) 1	
IV. RECEPTION D'UNE REQUETE EN CONVERSION	
La présente autorité de dépôt internationale a reçu le micro-organisme identifié sous chiffre I le (date du dépôt initial) et a reçu une requête en conversion du dépôt initial en dépôt conforme au Traité de Budapest le (date de réception de la requête en conversion)	
V. AUTORITE DE DEPOT INTERNATIONALE	
Nom : <b>CNCM</b> Collection Nationale de Cultures de Microorganismes  Adresse : <b>INSTITUT PASTEUR</b> 28, Rue du Docteur Roux F-75724 PARIS CEDEX 15	Signature(s) de la (des) personne(s) compétente(s) pour représenter l'autorité de dépôt internationale ou de l'(des) employé(s) autorisé(s) : <b>Mme Y. CERISIER</b> Directeur Administratif de la CNCM   Date : Paris, le 10 juin 1994

1 En cas d'application de la règle 6.4.d), cette date est la date à laquelle le statut d'autorité de dépôt internationale a été acquis.

## Revendications

1. Crème glacée caractérisée en ce qu'elle comprend une crème foisonnée et glacée, enrobée sur tout ou partie de sa surface extérieure par un enrobage non-foisonné comprenant  $10^3$  à  $10^9$  cfu/g de bactéries lactiques.
2. Crème glacée selon la revendication 1, caractérisée en ce que la crème foisonnée comprend plus de  $10^6$  cfu/g de bactéries lactiques, le rapport (e/g) entre le nombre de bactéries lactiques dans l'enrobage (e) et le nombre de bactéries lactiques dans la crème foisonnée (g) étant supérieur à 1.
3. Crème glacée selon la revendication 1, caractérisée en ce que l'enrobage comprend 1% à 70% d'un lait fermenté par des bactéries lactiques, 0,5% à 5% de protéines animales ou végétales, et un taux de matière grasse lactique de 2% à 20%.
4. Crème glacée selon la revendication 3, caractérisée en ce que l'enrobage comprend en outre 0,1% à 10% d'un polysaccharide hydrolysé ou modifié.
5. Crème glacée selon la revendication 4, caractérisée en ce que le polysaccharide modifié est un amidon acétylé, et en ce que le polysaccharide hydrolysé est un amidon ayant un taux en équivalent de dextrose de l'ordre de 15 à 25.
6. Crème glacée selon la revendication 1, caractérisée en ce que la crème foisonnée comprend plus de  $10^6$  cfu/g de bactéries lactiques, et que l'enrobage comprend plus de  $5 \times 10^6$  cfu/g de bactéries lactiques, 0,1% à 10% d'un amidon acétylé, 1% à 60% d'un lait, 0,5% à 5% de protéines animales ou végétales, et un taux de matière grasse de 2% à 20%.
7. Crème glacée selon la revendication 1, caractérisée en ce que l'enrobage comprend des fibres fermentescibles favorisant spécifiquement la croissance dans le tractus intestinal des bactéries lactiques contenues initialement dans l'enrobage.
8. Crème glacée selon la revendication 7, caractérisée en ce que les fibres sont choisies parmi les pectines, les fructo-, galacto-, gentio-, chito-, isomalto-, manno- ou xylo-oligosaccharides ou les oligosaccharides de soja.

9. Crème glacée selon l'une quelconque des revendications 1 à 8, caractérisée en ce qu'elle comprend la souche *Lactobacillus acidophilus* CNCM I-1225.
- 5 10. Crème glacée selon l'une quelconque des revendications 1 à 8, caractérisée en ce que les bactéries lactiques contenues dans l'enrobage sont ajoutées sous forme concentrée, sèche ou encapsulée.
- 10 11. Crème glacée comprenant une crème foisonnée enrobée sur tout ou partie de sa surface par un enrobage non-foisonné, ledit enrobage étant susceptible d'être obtenu par fermentation d'au moins une partie de la composition d'enrobage avec des bactéries lactiques, suivi par une inactivation des bactéries lactiques de manière à réduire le nombre de bactéries à moins de  $10^3$  CFU/g.
- 15 12. Utilisation de bactéries lactiques dans la préparation d'une crème destinée à enrober tout ou partie d'une crème glacée.



# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Interr. Application No  
PCT/EP 97/03560

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
IPC 6 A23G9/02

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
IPC 6 A23G

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 4 150 163 A (M. A. PETERSON) 17 April 1979 see column 3, line 12-17 see column 3, line 58-68 see column 5, line 30 - column 6, line 11; examples	1-3,9,12
Y	CH 684 774 A (M. BRUNNEN) 30 December 1994 see column 2, line 31-49; claims 1,2,6-8,10	1-3,9,12
X	EP 0 462 309 A (FRISCO-INDUS) 27 December 1991 see page 3, column 34-51	1

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

### \* Special categories of cited documents :

- \*A\* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- \*E\* earlier document but published on or after the international filing date
- \*L\* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- \*O\* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- \*P\* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

\*T\* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

\*X\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

\*Y\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

\*G\* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

22 October 1997

Date of mailing of the international search report

05.11.97

Name and mailing address of the ISA  
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Guyon, R

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 97/03560

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 5 393 549 A (E. BADERTSCHER ET AL.) 28 February 1995 see column 3, line 51-55; example 2 see column 1, line 24-27 ---	1
A	EP 0 716 810 A (NESTLE) 19 June 1996 see page 1, line 53-56; claims 1,2,9,10; example 5 ---	1
A	EP 0 468 560 A (UNILEVER) 29 January 1992 see page 3, line 32-45; claims 1,22,27,28,30,31 see page 4, line 4-6 ---	1
A	MILCHWISSENSCHAFT, --- vol. 46, no. 11, 1991, MUNCHEN, pages 696-700, XP002024669 see the whole document ---	1
A	EP 0 240 326 A (DEVSHONY SHLOMO) 7 October 1987 see the whole document -----	1,4

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No  
PCT/EP 97/03560

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 4150163 A	17-04-79	CA 1108922 A	15-09-81
CH 684774 A	30-12-94	NONE	
EP 462309 A	27-12-91	AT 113801 T	15-11-94
		AU 632939 B	14-01-93
		AU 7725291 A	02-01-92
		CA 2044643 A	22-12-91
		DE 69014102 D	15-12-94
		JP 2064917 C	24-06-96
		JP 5137552 A	01-06-93
		JP 7100021 B	01-11-95
		NO 179993 B	21-10-96
		US 5236502 A	17-08-93
US 5393549 A	28-02-95	EP 0517944 A	16-12-92
		AT 128822 T	15-10-95
		CA 2070483 A	15-12-92
		DE 69113790 D	16-11-95
		DE 69113790 T	21-03-96
		ES 2079519 T	16-01-96
EP 716810 A	19-06-96	NONE	
EP 468560 A	29-01-92	AT 114929 T	15-12-94
		AU 638591 B	01-07-93
		AU 8118491 A	30-01-92
		CA 2047498 A	24-01-92
		DE 69105654 D	19-01-95
		DE 69105654 T	20-04-95
		ES 2066335 T	01-03-95
		US 5232731 A	03-08-93
EP 240326 A	07-10-87	JP 62232339 A	12-10-87

104



# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Dema. internationale No  
PCT/EP 97/03560

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE  
CIB 6 A23G9/02

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

CIB 6 A23G

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés)

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
-----------	--	-------------------------------

Y	US 4 150 163 A (M. A. PETERSON) 17 avril 1979 voir colonne 3, ligne 12-17 voir colonne 3, ligne 58-68 voir colonne 5, ligne 30 - colonne 6, ligne 11; exemples	1-3,9,12
Y	CH 684 774 A (M. BRUNNEN) 30 décembre 1994 voir colonne 2, ligne 31-49; revendications 1,2,6-8,10	1-3,9,12
X	EP 0 462 309 A (FRISCO-INDUS) 27 décembre 1991 voir page 3, colonne 34-51	1

-/--

☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

\* Catégories spéciales de documents cités:

- \*"A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- \*"E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- \*"L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- \*"O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- \*"P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

\*"T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention

\*"X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément

\*"Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier

\*"Z" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

22 octobre 1997

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

05.11.97

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale  
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Guyon, R

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale No

PCT/EP 97/03560

## C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	US 5 393 549 A (E. BADERTSCHER ET AL.) 28 février 1995 voir colonne 3, ligne 51-55; exemple 2 voir colonne 1, ligne 24-27 ---	1
A	EP 0 716 810 A (NESTLE) 19 juin 1996 voir page 1, ligne 53-56; revendications 1,2,9,10; exemple 5 ---	1
A	EP 0 468 560 A (UNILEVER) 29 janvier 1992 voir page 3, ligne 32-45; revendications 1,22,27,28,30,31 voir page 4, ligne 4-6 ---	1
A	MILCHWISSENSCHAFT, vol. 46, no. 11, 1991, MUNCHEN, pages 696-700, XP002024669 voir le document en entier ---	1
A	EP 0 240 326 A (DEVSHONY SHLOMO) 7 octobre 1987 voir le document en entier -----	1,4

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demi Internationale No  
PCT/EP 97/03560

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
US 4150163 A	17-04-79	CA 1108922 A	15-09-81
CH 684774 A	30-12-94	AUCUN	
EP 462309 A	27-12-91	AT 113801 T	15-11-94
		AU 632939 B	14-01-93
		AU 7725291 A	02-01-92
		CA 2044643 A	22-12-91
		DE 69014102 D	15-12-94
		JP 2064917 C	24-06-96
		JP 5137552 A	01-06-93
		JP 7100021 B	01-11-95
		NO 179993 B	21-10-96
		US 5236502 A	17-08-93
US 5393549 A	28-02-95	EP 0517944 A	16-12-92
		AT 128822 T	15-10-95
		CA 2070483 A	15-12-92
		DE 69113790 D	16-11-95
		DE 69113790 T	21-03-96
		ES 2079519 T	16-01-96
EP 716810 A	19-06-96	AUCUN	
EP 468560 A	29-01-92	AT 114929 T	15-12-94
		AU 638591 B	01-07-93
		AU 8118491 A	30-01-92
		CA 2047498 A	24-01-92
		DE 69105654 D	19-01-95
		DE 69105654 T	20-04-95
		ES 2066335 T	01-03-95
		US 5232731 A	03-08-93
EP 240326 A	07-10-87	JP 62232339 A	12-10-87

